

part of  
#7

jc864 U.S. PTO  
09/648196  
08/25/00



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto is a true copy from the records of the Korean Industrial Property Office.

출원 번호 : 특허출원 1999년 제 1232 호  
Application Number

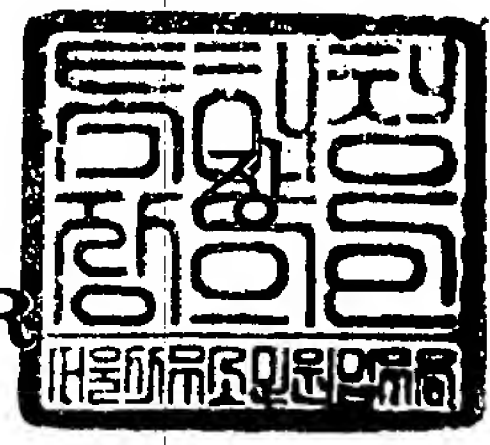
출원 년 월 일 : 1999년 01월 18일  
Date of Application

출원인 : 주식회사 엘지화학  
Applicant(s)



2000 년 07 월 13 일

특 허 청  
COMMISSIONER



【서류명】	출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	1
【제출일자】	1999.01.18
【발명의 명칭】	히아루론산을 이용한 단백질 약물의 서방성 미세 입자 제형
【발명의 영문명칭】	HYALURONATE MICROPARTICLES FOR SUSTAINED RELEASE OF A PROTEIN DRUG
【출원인】	
【명칭】	주식회사 엘지화학
【출원인코드】	1-1998-001275-0
【대리인】	
【성명】	오규환
【대리인코드】	9-1998-000435-1
【대리인】	
【성명】	장성구
【대리인코드】	9-1998-000514-8
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김명진
【성명의 영문표기】	KIM, Myung Jin
【주민등록번호】	590110-1064013
【우편번호】	305-340
【주소】	대전광역시 유성구 도룡동 381-42 엘지화학 사택 6동 104호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김선진
【성명의 영문표기】	KIM, Sun Jin
【주민등록번호】	650212-1011418
【우편번호】	143-192
【주소】	서울특별시 광진구 자양2동 662-2
【국적】	KR
【심사청구】	청구

## 【취지】

특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인

오규환 (인) 대리인

장성구 (인)

## 【수수료】

## 【기본출원료】

20 면 29,000 원

## 【가산출원료】

26 면 26,000 원

## 【우선권주장료】

0 건 0 원

## 【심사청구료】

14 항 557,000 원

## 【합계】

612,000 원

## 【첨부서류】

1. 요약서·명세서(도면)-1통 2. 위임장-1통

**【요약서】****【요약】**

본 발명은 단백질 또는 펩티드 약물을 포함시킨 히아루론산 또는 이의 무기염의 고체상의 입자표면을 친유성 물질로 피복한, 평균 입경 0.1 내지 200  $\mu\text{m}$  크기를 갖는 고체상의 미세 입자 제형으로, 본 발명의 제형은 약물의 생물학적 활성을 유지하면서 장기간 지속적으로 방출한다. 본 발명의 미세 입자 제형은 표면의 친유성으로 인하여 비수성 용액에 분산성이 우수하고, 나아가 비수성 용액에 분산된 것을 다시 수용액에 재분산하였을 때 고체 입자 표면의 친유성으로 인하여 수중유적형(oil-in-water) 에멀전을 자발적으로 형성한다. 따라서, 에멀전의 비수성(oil) 분산상 내에 고체상의 미세 입자가 포함되는 특징이 있어 점성이 낮은 분산액을 형성하므로 투여가 용이한 주사제로 제제화될 수 있다.

**【대표도】**

도 1

**【명세서】****【발명의 명칭】**

히아루론산을 이용한 단백질 약물의 서방성 미세 입자 제형 {Hyaluronate microparticles for sustained release of a protein drug}

**【도면의 간단한 설명】**

도 1은 인간 성장 호르몬(hGH)을 포함하는 본 발명의 서방성 고체 미세 입자 제형의 체외 방출 실험 결과를 나타낸 것이다.

도 2a 및 도 2b는 hGH를 포함하는 본 발명의 서방성 고체 미세 입자 제형의 약물 안정성을 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)하여 관찰한 결과로서, 도 2a는 본 발명의 미세 입자 제형에서 방출된 hGH를 나타내고, 도 2b는 본 발명의 제형 제조에 사용한 원료인 수용액상의 hGH를 나타낸다.

도 3a 및 도 3b는 hGH를 포함하는 본 발명의 서방성 고체 미세 입자 제형의 약물 안정성을 크기 배제 크로마토그래피(SEC)하여 관찰한 결과로서, 도 3a는 본 발명의 미세 입자 제형에서 방출된 hGH를 나타내고, 도 3b는 본 발명의 제형 제조에 사용한 원료인 수용액상의 hGH를 나타낸다.

**【발명의 상세한 설명】****【발명의 목적】****【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

<4> 본 발명은 체내에서 생물학적 활성이 있는 단백질 및 펩티드 약물을 지속적으로 방출하도록 제제화된 서방성 미세 입자 제형 및 이를 포함하는 주사제에 관한 것이다. 보다 상세하게, 본 발명은 히아루론산 또는 이의 무기염에 단백질 또는 펩티드 약물을 포함시킨 고체상의 미세 입자의 표면을 친유성 물질로 피복한 평균 입경 0.1 내지 200  $\mu\text{m}$  크기를 갖는 미세 입자 제형 및 이 제형을 포함하는 비수성 주사제 및 수중유적형 에멀전 주사제에 관한 것으로, 본 발명의 미세 입자 제형은 비수성 용액 및 수중유적형 에멀전에 대한 우수한 분산성으로 인해 주사가 용이하며, 투여 후 체내에서 약물이 생물학적 활성을 유지하면서 장기간 지속적으로 방출되는 특성을 가진다.

<5> 단백질 또는 펩티드 약물은 대다수가 체내에서 활성이 유지되는 기간이 짧고, 주사 이외의 투여방법으로는 흡수율이 낮아 장기간 약물을 투여하는 치료가 필요한 경우에는 이들 약물을 반복해서 계속적으로 주사하여야 한다. 예를들면 뇌하수체 결핍성 어린이 왜소증 치료를 목적으로 투여되는 인간 성장 호르몬의 경우, 매일 또는 이틀에 한 번씩 6 개월 이상 계속하여 주사하고 있는 실정이다. 이와 같은 불편을 해소하기 위하여 1 회 투여로 약물을 지속적으로 방출하는 서방성 제형이 요구되고 있다.

<6> 인간 성장 호르몬과 같은 단백질 또는 펩티드 약물에 대해서는, 이들 약물을 생분해성 고분자 매트릭스로 둘러 싸 형태의 미세 입자를 제조하여, 이의 투여시 매트릭스 물질이 체내에서 서서히 분해되어 제거되면서 약물이 서서히 방출되도록 하는 서방성 제

형에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 즉, 생체 적합성 및 생분해성을 갖는 폴리에스터 계열의 폴리락타이드(polylactide), 폴리글리콜라이드(polyglycolide), 이들의 공중합체인 폴리락타이드-코-글리콜라이드(poly(lactide-co-glycolide)), 폴리-오르토-에스터(poly-ortho-ester), 폴리안하이드라이드(polyanhydride) 등을 사용하여 단백질 약물을 포함하는 미세입자를 제조함으로써 체내 투여시에 고분자 물질이 가수분해됨에 따라 단백질 약물이 서서히 방출되도록한다(M. Chasin and R. Langer, ed., , Marcel Dekker(1990); J. Heller, , 10, 163(1993)). 이같은 합성 고분자를 사용한 단백질 약물의 서방성 제형은 고분자의 분해 속도가 느리기 때문에 약물의 방출이 수주일 내지 수개월 동안 지속된다.

<7> 한편, 천연 고분자 물질을 이용하여 이에 약물을 포함시킨 서방성 제형도 연구되고 있는데, 그 예로는 젤라틴, 콜라겐, 키토산, 카르복실메틸 셀룰로즈, 알지네이트, 히아루론산 등이 있다. 이들 천연 고분자들은 일반적으로 수분을 쉽게 흡수하여 젤(gel)을 형성하며, 점도가 매우 큰 젤에서는 단백질 약물의 전달 속도가 느린 성질을 이용하여 서방성 효과를 얻는다. 체내에는 이들 천연 고분자의 분해 효소가 존재하므로 천연 고분자를 이용한 제형의 약물 방출 지속기간은 통상 수일 미만이다.

<8> 히아루론산 또는 이의 무기염은 천연 고분자 물질로서 생체내에 존재하므로 동물에서 추출하거나, 또는 미생물을 이용한 발효에 의해 얻을 수 있으며, 이들은 일반적으로 나트륨 등의 무기염의 형태로 물에 녹여 젤을 만들어 안과수술 보조제,

관절염 치료제 등으로 사용될 뿐만 아니라, 형성된 젤은 점도가 매우 커서 약물의 확산 속도를 줄이는 특성으로 인하여 서방성 제형으로 사용될 수 있다. 예를 들어, 미합중국 특허 제 5,416,017 호에는 히아루론산의 농도가 0.01 내지 3 %인 젤을 사용한 적혈구 형성 자극인자(erythropoietin)의 서방성 주사제, 일본 특허 공개 제 1-287041 호 (1989)에는 인슐린을 히아루론산의 농도가 1 %인 젤에 함유시킨 서방성 주사제, 그리고 일본 특허 공개 제 2-213 호(1990)에는 칼시토닌, 엘카토닌, 또는 인간 성장 호르몬을 5 % 농도의 히아루론산에 함유시킨 서방성 제형이 기재되어 있고, 과립구-콜로니 자극인자(granulocyte-colony stimulating factor; G-CSF)를 0.5 내지 4 % 농도의 히아루론산 젤에 함유시킨 서방성 제형 등도 보고된 바 있다(James Meyer, et al., ., 35, 67(1995)).

<9> 이와 같은 제형에 있어서, 히아루론산의 젤내에 용해되어 있는 단백질 약물은 점도가 큰 젤 매트릭스를 느린 속도로 통과하므로 지속적인 방출 효과를 나타낼 수 있으나, 수 % 농도의 히아루론산 젤은  $10^5 - 10^7$  센티포이즈 정도의 높은 점도를 가지므로, 구경이 큰 주사바늘을 사용하여야 하는 등 주사로 투여하는 것이 용이하지 않다. 아울러, 젤 형태의 히아루론산 제형에서 단백질 약물과 히아루론산은 모두 주사 이전에 이미 물에 용해된 상태이므로 주사 후에 체액에 의해 쉽게 젤이 희석되어 약물의 방출이 1 일 이상 지속되지 않는다는 단점이 있다. 예를들면, 일본 특허 공개 제 1-287041 호(1989)에서 보고하였듯이 인슐린을 히아루론산 1 % 농도의 젤에 함유시킨 서방성 주사제형을 토끼에 주사했을 때 인슐린에 의한 글루코



스의 혈중 농도의 강하 효과가 24 시간 이상 지속되지 않으며, 과립구-콜로니 자극인자를 히아루론산 2 % 겔에 함유시킨 제형(James Meyer, et al., *J. Controlled Rel.*, 35, 67(1995)) 및 인터페론- $\alpha$ 를 혈장 단백질과 함께 히아루론산 1.5 % 겔에 혼합한 제형(미합중국 특허 제 5,416,017 호)의 경우에는 실험 동물에 투여시에 실험 동물 혈장에서의 이들 단백질 약물의 농도가 24 시간 이내에 최초 농도의 1/10 이하로 급격히 떨어진다. 아울러 이들 히아루론산 겔 제형 투여 동물의 단백질 약물의 혈중농도의 변화 양상은, 히아루론산이 없는 수용액상의 단백질 약물을 투여한 대조군 동물과 비교하였을 때 큰 차이가 없다.

- <10>        이상의 보고들을 보면 천연형 히아루론산 겔 제형에서 단백질 또는 펩티드 약물의 변성 가능성은 나타나지 않으나, 체내 투여시 겔이 체액에 의해 희석되어 방출 기간이 1 일 이상 지속되지 않는 결점이 있다.
- <11>        천연형 히아루론산 또는 이의 무기염은 물에만 녹으며, 이때 저농도에서도 점도가 상당히 큰 겔을 형성한다. 이러한 특성 때문에 천연형 히아루론산 또는 이의 무기염을 사용한 고체상의 미세 입자 형태의 서방성 제형을 제조한 사례가 없다.
- <12>        한편, 천연형 히아루론산의 카르복실기에 벤질알콜을 결합 반응시킨 합성형 히아루론산-벤질에스터 HYAFF™은 물에 녹지 않고 디메틸설폭사이드 같은 유기용매에 녹는다. 이같은 소수성을 지닌 히아루론산 유도체를 사용하여 에멀전 용매추출법으로 고체상의 미세입자를 제조한 예들이 있다 (N.S. Nightlinger, et al.,

Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., 22nd, Paper No. 3205(1995); L. Illum, et al., *J. Controlled Rel.*, 29, 133(1994)). 이방법을 간단히 설명하면, 단백질 약물 입자를 히아루론산-벤질에스터가 녹아 있는 디메틸설폭사이드 용액에 분산시키고, 이 분산액을 미네랄 오일에 가하여 에멀전을 형성시킨다. 에멀전에 디메틸설폭사이드와 섞이는 에틸아세테이트 같은 용매를 첨가한 후 디메틸설폭사이드를 추출하여 단백질 약물 입자와 히아루론산-벤질에스터로 구성된 미세 입자를 얻는다.

- <13> 히아루론산-벤질에스터를 사용한 미세입자의 경우 입자 제조시에 유기용매를 사용하여 하며, 이경우 단백질이 소수성인 유기 용매와 접촉하여 변성의 우려가 있고, 또한 히아루론산-벤질에스터의 소수성으로 인한 단백질의 변성 가능성이 높다. 실제로 히아루론산-벤질에스터를 사용한 GM-CSF 서방성 미세입자의 방출실험에서 히아루론산의 카르복실기에 벤질에스터가 100 % 형성된 경우 미세입자로부터 GM-CSF가 최초 1-2 일 동안에 25 % 정도가 방출되고 이후 17 일까지는 더 이상 방출되지 않음이 보고된 바 있다 (N.S. Nightlinger, et al., *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, 22nd, Paper No. 3205(1995)). 이 경우, 3 시간 이내에 미세입자내의 함유율이 75 %로 팽윤이 되었음에도 불구하고 방출이 지속되지 않는다는 사실은 단백질 약물과 히아루론산-벤질에스터, 또는 단백질과 유기용매와의 상호작용으로 인해 단백질 약물이 변성되었을 가능성을 시사하고 있다.

**【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】**

<14>        본 발명의 목적은 체내에서 단백질 약물의 생물학적 활성을 유지하고 지속적으로 약물을 방출할 수 있도록 제제화한 서방성 미세 입자 제형, 이를 포함하는 주사제 및 에어로솔(aerosol) 제제를 제공하는 것이다.

**【발명의 구성 및 작용】**

<15>        상기 목적에 따라, 본 발명에서는 천연형 히아루론산 또는 이의 무기염에 단백질 또는 펩티드 약물을 포함시킨 고체상의 미세 입자를 친유성 물질 (lipophilic material) 로 피복한 제형으로서, 약물이 생물학적 활성을 유지하면서 장기간 지속적으로 방출되도록 하는, 평균 입경 0.1 내지 200  $\mu\text{m}$ 의 서방성 고체상 미세 입자 제형, 이를 주사제용 용액에 분산시킨 주사제 및 에어로솔 제제를 제공한다.

<16>        본 발명의 고체상의 미세입자 제형은 고체상의 미세 입자의 표면이 친유성 물질로 구성되어 있어 식물성 기름등의 비수성 용액에 분산성이 우수하여 점성이 낮은 주사제형을 제공한다. 또한, 상기 비수성 용액에 분산된 상태에 주사용 완충 수용액을 첨가하면 고체 입자 표면의 친유성 물질과 비수성 용액의 친화성으로 인하여 고체 입자 표면에 비수성 용액이 코팅(coating)되는 특징을 나타낸다. 이로 말미암아 수중유적형 에멀전(oil-in-water emulsion)이 형성되고 비수성 상에 약물이 함유된 고체상의 미세 입자들이 포함되어 있어 주사용 완충 수용액으로 주사제를 제조할 경우에도 약물이 포함된 고체 입자들은 물과 직접 접촉하지 않아 기존의 히아루론산 겔을 이용한 서방성 제형보다 약물 방출 지속 기간이 길며, 점성이 매우 낮아 투여가 용이하다. 또한 미세 입자 제형

의 특징으로 인하여 에어로솔 제제로 만들어 간편하게 투여할 수 있고, 표면이 친유성 물질로 구성되어 있어 수분으로부터 보호되는 특징이 있다.

- <17> 본 발명의 제형에서는 약물이 소수성 물질과 직접 접촉하지 않으므로 히아루론산-벤질에스터와 같이 유기용매에 녹는 소수성 물질을 사용하였을 때에 발생하는 단백질의 변성이 일어나지 않아 약물이 100 % 방출될 때까지 변성되지 않는 특징이 있다.
- <18> 본 발명의 미세 입자를 제조하기 위해서는 일차적으로 단백질 또는 펩티드 약물이 천연형 히아루론산 또는 이의 무기염에 포함된 평균 입경 0.1 내지 40  $\mu\text{m}$ , 바람직하게는 1 내지 10  $\mu\text{m}$  의 1차 고체상 미세 입자를 제조한다. 1차 고체상 미세 입자는 분무 건조법 또는 동결 건조법 등의 방법으로 제조되며, 필요에 따라 약물의 안정성을 높여 주는 안정제가 포함된다. 그 후 약물과 히아루론산(또는 이의 무기염)으로 구성된 1차 고체상 미세 입자를 친유성 물질로 피복하여 평균 입경 0.1 내지 200  $\mu\text{m}$ , 바람직하게는 1 내지 100  $\mu\text{m}$ , 더욱 바람직하게는 1 내지 50  $\mu\text{m}$ , 가장 바람직하게는 1 내지 20  $\mu\text{m}$  의 고체상 미세 입자를 제조한다. 최종적으로 제조된 고체상 미세 입자의 크기는 친유성 물질의 함량에 따라 임의로 조절할 수 있다.
- <19> 본 발명에 사용할 수 있는 친유성 피복 물질로는 레시틴(lecithin), 포스파티딜콜린(phosphatidylcholine), 포스파티딜에탄올아민(phosphatidylethanolamine), 포스파티딜세린(phosphatidylserine), 포스파티딜이노시톨(phosphatidylinositol)

등의 리피드 및 이들 리피드의 유도체; 미리스트산(myristic acid), 팔미트산(palmitic acid), 스테아르산(stearic acid) 등의 지방산 및 이들 지방산의 염; 글리세릴 스테아레이트(glyceryl stearate), 소르비탄 팔미테이트(sorbitan palmitate), 소르비탄 스테아레이트(sorbitan stearate) 등의 지방산의 에스터 유도체; 폴록사머(poloxamer) 등의 계면활성제 및 왁스 등이 있다.

<20> 본 발명의 고체상의 미세 입자에 사용될 수 있는 약물로는 인간 성장 호르몬, 소 성장 호르몬, 돼지 성장 호르몬, 성장 호르몬 방출 호르몬, 성장 호르몬 방출 펩티드, 과립구-콜로니 자극인자(G-CSF), 과립구 마크로파지-콜로니 자극인자(granulocyte macrophage-colony stimulating factor; GM-CSF), 마크로파지 콜로니 자극인자(macrophage-colony stimulating factor; M-CSF), 에리트로포이에틴(erythropoietin), 골격 형태발생 단백질(bone morphogenic protein), 인터페론(interferon), 인슐린(insulin), 아트리오펩틴-III(atriopeptin-III), 모노클로날 항체(monoclonal antibody), 종양 괴사 인자(TNF), 마크로파지 활성화인자(macrophage activating factor), 인터루킨(interleukin), 종양 변성인자(tumor degenerating factor), 인슐린-유사 성장 인자(insulin-like growth factor), 표면 성장인자(epidermal growth factor), 조직 플라스미노겐 활성화제(tissue plasminogen activator), 유로키나제(urokinase) 등이 있다.

<21> 약물의 안정제로는 만니톨 등의 탄수화물, 혈장 알부민 등의 단백질, 글리신 등의 아미노산, 포스파티딜 콜린 등의 리피드, 스테아르산 등의 지방산, 인산염 등의 무기염, 트윈(Tween<sup>R</sup>) 등의 계면활성제, 폴리에틸렌 글리콜 또는 이들의 혼합물이 사용될 수 있다.

- <22> 본 발명의 천연형 히아루론산을 사용한 고체상의 미세입자에서, 단백질 또는 펩티드 약물의 함량은 친유성 물질이 피복된 고체 입자의 총중량을 기준으로 1 중량% 내지 90 중량% 범위이고, 안정제의 함량은 친유성 물질이 피복된 고체 입자의 총중량을 기준으로 1 중량% 내지 90 중량% 범위이다. 또한, 고체상의 미세 입자의 표면을 구성하는 친유성 물질의 함량은 친유성 물질이 피복된 고체 입자의 총중량을 기준으로 1 중량% 내지 90 중량% 범위이다.
- <23> 본 발명에 따른 천연형 히아루론산을 이용한 고체상의 미세입자 제형은 주사제용 용액에 분산시켜 서방성 주사제로 제조될 수 있다. 주사제용 용액으로는 주사용 증류수 및 주사용 완충용액과 같은 주사용 수용액; 및 식용유, 미네랄 오일(mineral oil), 스쿠알렌(squalene), 스쿠알란(squalane), 대구 간유(cod liver oil), 모노(mono)-, 디(di)- 및 트리(tri)-글리세라이드(glyceride) 또는 이들의 혼합물과 같은 비수성 주사용액을 사용할 수 있다. 식용유의 예로는 옥배유(corn oil), 올리브유(olive oil), 대두유(soybean oil), 홍화유(safflower oil), 면실유(cotton seed oil), 땅콩유(peanut oil), 호마유(sesame oil), 또는 이들의 혼합물을 들 수 있다. 또한, 필요에 따라 주사제 용액에는 분산제나 방부제가 추가로 포함될 수 있다.
- <24> 구체적으로, 본 발명의 주사제는 고체상의 미세입자 제형을 식물성 기름등의 비수성 용액에 분산하여 제조하거나, 상기 비수성 용액에 분산된 상태에 주사용 완충 수용액을 첨가하여 수중유적형 에멀전(oil-in-water emulsion)을 형성함으로써 제조할 수 있다.
- <25> 한편, 본 발명에 따른 고체상의 미세입자 제형은 통상적인 부형제를 사용하여 코점막이나 기관지 점막을 통해 흡수되도록 하는 에어로솔 제제로도 제조될 수 있다.

<26> 이하 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명한다. 다만, 본 발명의 범위가 하기 실시예 만으로 한정되는 것은 아니다.

<27> 실 시 예 1 : 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자

<28> 인간 성장 호르몬이 2 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충 용액에 계면활성제인 트윈 80을 완충용액의 중량을 기준으로 0.01 중량%의 양으로 첨가하였다. 이 용액에 분자량 1,000,000인 히아루론산 나트륨을 2 mg/ml 농도로 용해시켜 최종 용액을 만들었다. 이 최종용액을 3 ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조 공기의 온도는 85 °C이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 3  $\mu\text{m}$ 이었다. 인간 성장 호르몬이 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 레시틴이 10 mg/ml 농도로 녹아 있는 에탄올 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 레시틴이 피복된 평균 입경 7  $\mu\text{m}$  크기의 미세 입자를 제조하였다.

<29> 실 시 예 2 : 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자

<30> 인간 성장 호르몬이 1 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충 용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 이 용액에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 1 mg/ml 농도로 용해시켜 최종 용액을 만들었다. 이 최종용액을 3 ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조 공기의 온도는 85 °C이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 2  $\mu\text{m}$ 이었다. 인간 성장 호르몬이 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 레시틴이 10 mg/ml 농도

로 녹아 있는 에탄올 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 레시틴이 피복된 평균 입경 5  $\mu\text{m}$  크기의 미세 입자를 제조하였다.

<31> 실 시 예 3 : 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자

<32> 인간 성장 호르몬이 0.1 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충 용액에 계면활성제인 트윈 80 을 0.01 중량 % 첨가하였다. 이 용액에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 0.9 mg/ml 농도로 용해시켜 최종 용액을 만들었다. 이 최종용액을 3 ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조 공기의 온도는 85  $^{\circ}\text{C}$ 이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 2  $\mu\text{m}$ 이었다. 인간 성장 호르몬이 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 레시틴이 10 mg/ml 농도로 녹아 있는 에탄올 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 레시틴이 피복된 평균 입경 5  $\mu\text{m}$  크기의 미세 입자를 제조하였다.

<33> 실 시 예 4 : 소 성장 호르몬 함유 미세 입자

<34> 소 성장 호르몬(bST)이 2 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 여기에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 2 mg/ml 농도로 용해 시켜 최종용액을 만든 후 이를 3ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조공기의 온도는 85  $^{\circ}\text{C}$  이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 3 $\mu\text{m}$ 이었다. 소 성



장 호르몬이 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 10 g을 레시틴이 10 mg/ml 농도로 녹아 있는 에탄올 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 레시틴이 피복된 평균 입경 7  $\mu\text{m}$  크기의 미세 입자를 제조하였다.

<35> 실 시 예 5: 돼지 성장 호르몬 함유 미세 입자

<36> 돼지 성장 호르몬(pST)이 2 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 여기에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 2 mg/ml 농도로 용해시켜 최종용액을 만든 후 이를 3 ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조공기의 온도는 85  $^{\circ}\text{C}$  이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 3 $\mu\text{m}$ 이었다. 돼지 성장 호르몬이 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 레시틴이 10 mg/ml 농도로 녹아 있는 에탄올 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 레시틴이 피복된 평균 입경 7  $\mu\text{m}$  크기의 미세 입자를 제조하였다.

<37> 실 시 예 6: 과립구 마크로파지-콜로니 자극인자(GM-CSF) 함유 미세 입자

<38> GM-CSF가 0.4 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 여기에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 1.6 mg/ml 농도로 용해시켜 최종용액을 만든 후 이를 3ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조공기의 온도는 85  $^{\circ}\text{C}$  이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 3 $\mu\text{m}$ 이었다. GM-CSF가 포함된

히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 레시틴이 10 mg/ml 농도로 녹아 있는 에탄올 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 레시틴이 피복된 평균 입경 7  $\mu\text{m}$  크기의 미세 입자를 제조하였다.

<39> 실 시 예 7: 에리트로포이에틴 함유 미세 입자

<40> 에리트로포이에틴(EPO)이 1000 IU/ml, 혈장 알부민이 0.5 mg/ml 의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 여기에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 2.5mg/ml로 용해시켜 최종용액을 만든 후 이를 3ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조공기의 온도는 85  $^{\circ}\text{C}$  이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 3.5 $\mu\text{m}$ 이었다. EPO가 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 레시틴이 10 mg/ml 농도로 녹아 있는 에탄올 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 레시틴이 피복된 평균 입경 7  $\mu\text{m}$  크기의 미세 입자를 제조하였다.

<41> 실 시 예 8: 인터페론-알파 함유 미세 입자

<42> 인터페론-알파(interferon- $\alpha$ )  $2 \times 10^5$  IU/ml, D-만니톨 0.2 mg/ml 및 혈장 알부민 0.2 mg/ml를 포함하는 용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 여기에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 2.5 mg/ml로 용해시켜 최종용액을 만든 후 이를 3ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조공기의 온도는 105  $^{\circ}\text{C}$  이고 얻어진 미세 입자의 평균 입

경은  $3.5\mu\text{m}$ 이었다. 인터페론-알파가 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 레시틴이 10 mg/ml 농도로 녹아 있는 에탄올 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기 (Buchi 190)에 공급하여 레시틴이 피복된 평균 입경  $7\mu\text{m}$  크기의 미세 입자를 제조하였다.

<43> 실 시 예 9: 인터페론-감마 함유 미세 입자

<44> 인터페론-감마(interferon- $\gamma$ )  $2 \times 10^5$  IU/ml, 글리신 0.2 mg/ml 및 혈장 알부민 0.2 mg/ml를 포함하는 용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 여기에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 2.5mg/ml로 용해시켜 최종용액을 만든 후 이를 3ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조공기의 온도는  $105^\circ\text{C}$  이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은  $3.5\mu\text{m}$ 이었다. 인터페론-감마가 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 레시틴이 10 mg/ml 농도로 녹아 있는 에탄올 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기 (Buchi 190)에 공급하여 레시틴이 피복된 평균 입경  $7\mu\text{m}$  크기의 미세 입자를 제조하였다.

<45> 실 시 예 10: 인슐린 함유 미세 입자

<46> 인슐린(insulin)이 20 IU/ml의 농도로 용해되어 있는 10 mM 인산염 완충용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 여기에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 2 mg/ml로 용해시켜 최종용액을 만든 후 이를 3ml/분의 유량으로 분무건조기

(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조공기의 온도는 85 °C 이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 3 $\mu$ m이었다. 인슐린이 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 레시틴이 10 mg/ml 농도로 녹아 있는 에탄올 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 레시틴이 피복된 평균 입경 7  $\mu$ m 크기의 미세 입자를 제조하였다.

<47> 실 시 예 11: IGF-I 함유 미세 입자

<48> 인슐린-유사 성장인자-I(insulin-like growth factor-I)가 2mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 여기에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 2 mg/ml로 용해시켜 최종용액을 만든 후 이를 3ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조공기의 온도는 85 °C 이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 3 $\mu$ m이었다. 인슐린 유사 성장 인자-I이 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 레시틴이 10 mg/ml 농도로 녹아 있는 에탄올 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 레시틴이 피복된 평균 입경 7  $\mu$ m 크기의 미세 입자를 제조하였다.

<49> 실 시 예 12: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자

<50> 인간 성장 호르몬이 1 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충 용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 이 용액에 분자량 2,000,000인 히아루론

산 나트륨을 1 mg/ml 농도로 용해시켜 최종 용액을 만들었다. 이 최종용액을 3 ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조 공기의 온도는 85 °C이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 2  $\mu\text{m}$ 이었다. 인간 성장 호르몬이 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 스테아르산이 5 mg/ml 농도로 녹아 있는 메틸렌 클로라이드( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 스테아르산이 피복된 평균 입경 6  $\mu\text{m}$  크기의 미세 입자를 제조하였다.

<51> 실 시 예 13: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자

<52> 인간 성장 호르몬이 1 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충 용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 이 용액에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 1 mg/ml 농도로 용해시켜 최종 용액을 만들었다. 이 최종용액을 3 ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조 공기의 온도는 85 °C이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 2  $\mu\text{m}$ 이었다. 인간 성장 호르몬이 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 스펜 60(sorbitan monostearate; 입수처: ICI Americas)이 5 mg/ml 농도로 녹아 있는 이소-프로필 알콜 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 스펜 60이 피복된 평균 입경 7  $\mu\text{m}$  크기의 미세 입자를 제조하였다.

<53> 실 시 예 14: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자

<54> 인간 성장 호르몬이 1 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충 용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 이 용액에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 1 mg/ml 농도로 용해시켜 최종 용액을 만들었다. 이 최종용액을 3 ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조 공기의 온도는 85 °C이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 2  $\mu$ m이었다. 인간 성장 호르몬이 포함된 히아루론산 나트륨 미세 입자 5 g을 글리세릴 모노-스테아레이트(glyceryl mono-stearate)가 5 mg/ml 농도로 녹아 있는 메틸렌 클로라이드(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 500 ml에 분산하여 얻어진 분산액을 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 글리세릴 모노-스테아레이트가 피복된 평균 입경 7  $\mu$ m 크기의 미세 입자를 제조하였다.

<55> 실 시 예 15: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자의 면실유 분산액

<56> 실시예 2에서 제조된 인간 성장 호르몬이 포함된 미세 입자 50, 100, 200, 360 및 500 mg에 면실유 1 ml를 각각 첨가하여 볼텍스 혼합기(vortex mixer)로 고체상의 미세 입자들을 면실유에 분산하여 미세 입자 농도가 각각 50, 100, 200, 360 및 500 mg/ml인 면실유 분산액을 제조하였다.

<57> 실 시 예 16: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자의 식용유 분산액

<58> 실시예 2에서 제조된 인간 성장 호르몬이 포함된 미세 입자 100 mg을 대두유, 옥배유, 호마유 각 1 ml에 분산하여 미세 입자 농도가 100 mg/ml인 대두유, 옥배유, 호마유 분산액을 제조하였다.

<59> 실 시 예 17: 소 성장 호르몬 함유 미세입자의 식용유 분산액

<60> 실시예 4에서 제조된 소 성장 호르몬이 포함된 미세 입자 360 mg을 면실유, 대두유, 옥배유, 호마유 각 1 ml에 분산하여 미세 입자 농도가 360 mg/ml인 면실유, 대두유, 옥배유, 호마유 분산액을 제조하였다.

<61> 실 시 예 18: 돼지 성장 호르몬 함유 미세 입자의 식용유 분산액

<62> 실시예 5에서 제조된 돼지 성장 호르몬이 포함된 미세 입자 360 mg을 면실유, 대두유, 옥배유, 호마유 각 1 ml에 분산하여 미세 입자 농도가 360 mg/ml인 면실유, 대두유, 옥배유, 호마유 분산액을 제조하였다.

<63> 실 시 예 19: 인터페론-알파 함유 미세 입자의 식용유 분산액

<64> 실시예 8에서 제조된 인터페론-알파가 포함된 미세 입자 360 mg을 면실유, 대두유, 옥배유, 호마유 각 1 ml에 분산하여 미세 입자 농도가 360 mg/ml인 면실유, 대두유, 옥배유, 호마유 분산액을 제조하였다.

<65> 실 시 예 20: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자의 에멀전 분산액

<66> 실시예 15에서 제조된, 인간 성장 호르몬이 포함된 미세 입자의 농도가 각각 50, 100, 200, 360 및 500 mg/ml인 면실유 분산액 각 1 ml에 NaCl 0.9 % 수용액을 각각 9, 4, 3, 2, 1.5 ml씩 첨가하여, 최종 분산액의 고체 입자 농도가 각각 5, 20, 50, 120,

200 mg/ml이며, 분산액의 조성은 면실유/물의 비가 각각 1/9, 1/4, 1/3, 1/2, 2/3이 되게 하였다. 최종 분산액을 손으로 흔들면 균질한 백색의 불투명한 수중유적형 (oil-in-water) 에멀전이 형성되며 고체상의 미세 입자는 분산상인 기름 액적(oil droplet) 내에 포함된다. 즉 고체 입자 표면의 친유성으로 인하여 고체 입자를 함유하는 면실유 액적이 수용액내에 안정하게 생성된다. 이렇게 제조된 수중유적형 에멀전 분산액은 상온에서 2주 이상 방치하여도 균질한 상(homogeneous phase)으로 보존되었다.

<67> 실 시 예 21: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자의 에멀전 분산액

<68> 실시예 16에서 제조된, 인간 성장 호르몬이 포함된 미세 입자의 농도가 100 mg/ml 인 대두유, 옥배유, 호마유 분산액 각 1 ml에 NaCl 0.9% 수용액을 4 ml씩 첨가하여, 식용유/물의 비가 1/4인 액상에 고체 입자 농도가 20 mg/ml가 되게 하였다. 최종 분산액을 손으로 흔들어서 균질한 상의 백색의 불투명한 수중유적형 에멀전 분산액을 제조하였다.

<69> 실 시 예 22: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자의 에멀전 분산액

<70> 실시예 12에서 제조된 인간 성장 호르몬-함유 미세 입자 100 mg을 대두유 1 ml에 분산하고, 이 분산액에 NaCl 0.9% 수용액 4 ml를 첨가하고, 손으로 흔들어서 균질한 상의 백색의 불투명한 수중유적형 에멀전 분산액을 제조하였다.

<71> 실 시 예 23: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자의 에멀전 분산액



<72> 실시예 13에서 제조된 인간 성장 호르몬-함유 미세 입자 100 mg을 대두유 1 ml에 분산하고, 이 분산액에 NaCl 0.9% 수용액 4 ml를 첨가하고, 손으로 흔들어서 균질한 상의 백색의 불투명한 수중유적형 에멀전 분산액을 제조하였다.

<73> 실 시 예 24: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자의 에멀전 분산액

<74> 실시예 14에서 제조된 인간 성장 호르몬-함유 미세 입자 100 mg을 대두유 1 ml에 분산하고, 이 분산액에 NaCl 0.9% 수용액 4 ml를 첨가하고, 손으로 흔들어서 균질한 상의 백색의 불투명한 수중유적형 에멀전 분산액을 제조하였다.

<75> 실 시 예 25: 소 성장 호르몬 함유 미세 입자의 에멀전 분산액

<76> 실시예 17에서 제조된, 소 성장 호르몬이 포함된 미세 입자의 농도가 360 mg/ml인 면실유, 대두유, 옥배유, 호마유 분산액 각 1 ml에 NaCl 0.9% 수용액을 2 ml씩 첨가하여, 식용유/물의 비가 1/2인 액상에 고체 입자 농도가 120 mg/ml가 되게 하였다. 최종 분산액을 손으로 흔들어서 균질한 상의 백색의 불투명한 수중유적형 에멀전 분산액을 제조하였다.

<77> 실 시 예 26: 돼지 성장 호르몬 함유 미세 입자의 에멀전 분산액

<78> 실시예 18에서 제조된, 돼지 성장 호르몬이 포함된 미세 입자의 농도가 360 mg/ml인 면실유, 대두유, 옥배유, 호마유 분산액 각 1 ml에 NaCl 0.9% 수용액을 2 ml씩 첨가하여, 식용유/물의 비가 1/2인 액상에 고체 입자 농도가 120 mg/ml가 되게 하였다. 최

중 분산액을 손으로 흔들어서 균질한 상의 백색의 불투명한 수중유적형 에멀전 분산액을 제조하였다.

<79> 실 시 예 27: 인터페론-알파 함유 미세 입자의 에멀전 분산액

<80> 실시예 19에서 제조된, 인터페론-알파가 포함된 미세 입자의 농도가 360 mg/ml인 면실유, 대두유, 옥배유, 호마유 분산액 각 1 ml에 NaCl 0.9% 수용액을 2 ml씩 첨가하여, 식용유/물의 비가 1/2인 액상에 고체 입자 농도가 120 mg/ml가 되게 하였다. 최종 분산액을 손으로 흔들어서 균질한 상의 백색의 불투명한 수중유적형 에멀전 분산액을 제조하였다.

<81> 비 교 예 1: 인간 성장 호르몬 함유 친수성 표면의 미세 입자

<82> 인간 성장 호르몬이 1 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충 용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 이 용액에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 1 mg/ml 농도로 용해시켜 최종 용액을 만들었다. 이 최종용액을 3 ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 미세 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조 공기의 온도는 85 °C이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 2  $\mu$ m이었다. 제조된 미세 입자는 친수성 표면을 가지고 있다.

<83> 비 교 예 2: 인간 성장 호르몬 함유 친수성 표면의 미세 입자의 면실유 분산액

<84> 비교예 1에서 제조된 인간 성장 호르몬-함유 미세 입자 100 mg을 면실유 1 ml에 분

산하여 면실유 분산액을 제조하였다.

<85> 비 교 예 3: 인간 성장 호르몬 함유 친수성 표면의 미세 입자 O/W 분산액

<86> 비교예 2에서 제조된, 인간 성장 호르몬이 포함된 면실유 분산액 1 ml에 NaCl 0.9 % 농도의 주사용 수용액 4 ml를 첨가하고, 용기를 손으로 흔들어 오일/물 분산액을 제조하였다. 분산액이 수중유적형 에멀전을 형성하지 않았고, 면실유가 상층으로 분리되고 고체 입자들은 상층의 면실유와 하층의 물에 모두 분산되어 있었다. 오일/물 혼합 분산액을 볼텍스 혼합기로 혼합하여도 수중유적형 에멀전이 형성되지 않았다.

<87> 비 교 예 4: 인터페론-알파 함유 친수성 표면의 미세 입자

<88> 인터페론-알파(interferon- $\alpha$ )  $2 \times 10^5$  IU/ml, D-만니톨 0.2 mg/ml 및 혈장 알부민 0.2 mg/ml를 포함하는 용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량% 첨가하였다. 여기에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 2.5 mg/ml로 용해시켜 최종용액을 만든 후 이를 3ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조공기의 온도는 105 °C 이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 3.5  $\mu\text{m}$ 이었다.

<89> 비 교 예 5: 인터페론-알파 함유 친수성 표면의 미세입자 면실유 분산액

<90> 비교예 4에서 제조된, 인터페론-알파가 포함된 미세 입자 100 mg을 면실유 1 ml에 분산하여 면실유 분산액을 제조하였다.

<91> 비 교 예 6: 인터페론-알파 함유 친수성 표면의 미세 입자 O/W 분산액

<92> 비교예 5에서 제조된 인터페론-알파가 포함된 면실유 분산액 1 ml에 NaCl 0.9 % 농도의 주사용 수용액 4 ml를 첨가하고, 용기를 손으로 흔들어 오일/물 분산액을 제조하였다. 분산액이 수중유적형 에멀전을 형성하지 않았고, 면실유가 상층으로 분리되고 고체 입자들은 상층의 면실유와 하층의 물에 모두 분산되어 있었다.

<93> 시 험 예 1: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자의 체외 방출 시험

<94> 실시예 1, 2 및 3과 같이 제조한 인간 성장 호르몬이 포함된 히아루론산 미세입자를 pH 7.4 인 완충용액(염화나트륨 150 mM, 인산염 10 mM, 소듐 아자이드 0.05 %)에 인간 성장 호르몬 농도가 1.0 mg/ml가 되도록 분산시켰다. 이 분산액을 37 °C 의 교반기에 넣고 인간 성장 호르몬의 방출 시험을 실시하였다. 일정 반응 시간 후에 분산액을 800 g 에서 10 분간 원심 분리한 뒤 상층액에서 전체 분산액의 1/10 양을 취하고 동일한 양의 상기 완충용액을 가한 뒤에 다시 37 °C 에서 방출 시험을 계속하였다.

<95> 상층액에서의 인간 성장 호르몬의 농도는 라우리법 및 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 법으로 측정하고 시간에 따른 인간 성장 호르몬의 방출량을 구하였다. 그림 1에 나타내었듯이 히아루론산의 분자량이 클수록, 그리고 인간 성장 호르몬의 함량이 작을수록 히아루론산 제형에서의 인간 성장 호르몬의 방출 속도가 느리다. 히아루론산의 분자량, 단백질 함량 등의 조건에 따라 방출지속기간의 조절을 할 수 있음을 알 수 있다. 또한 체외 방출시험에 의한 방출의 양상은 초기의 급격한 방출이 없고 70 % 정도의 방출이 있기까지 일정한 방출 속도를 보인다.

<96> 시 험 예 2: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자의 안정성 시험

<97> 히아루론산 미세 입자 제형내에 있는 인간 성장 호르몬이 미세입자 제형 제조에 사용한 수용액상의 인간 성장 호르몬과 동일한 활성을 갖는지의 여부를 판단하기 위하여, 시험예 1의 체외 방출 시험에서 실시예 2의 인간 성장 호르몬-함유 미세 입자 제형으로부터 48 시간까지 방출된 인간 성장 호르몬을 역상 HPLC, 크기 배제 크로마토그래피 (size exclusion chromatography: SEC) 방법을 사용하여 분석하였다. 역상 HPLC에서는 산화(oxidation), 탈아미드화(deamidation)에 의한 변성을 확인할 수 있으며, SEC로는 응집(aggregation)에 의한 변성을 확인할 수 있다.

<98> 도 2는 본 발명의 hGH를 포함하는 서방성 고체 미세 입자의 약물 안정성을 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)로 관찰한 결과로서, 도 2a는 본 발명의 미세 입자에서 방출된 hGH에 대한 결과를, 도 2b는 본 발명의 제형 제조에 사용된 수용액상의 원료 hGH에 대한 결과를 나타낸다. 도 3은 본 발명의 hGH를 포함하는 서방성 고체 미세 입자의 약물 안정성을 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 관찰한 결과로서, 도 3a는 본 발명의 미세 입자에서 방출된 hGH에 대한 결과를, 도 3b는 본 발명의 제형 제조에 사용된 수용액상의 원료 hGH의 결과를 나타낸다. 도 2 및 도 3에서 보듯이, 본 발명의 미세입자 제형에서 방출된 인간 성장 호르몬은 원료로 사용한 수용액상에 있던 것과 RP-HPLC 결과도 동일하며, SEC 결과로도 단량체의 함량이 95 % 이상으로, 미세 입자 제조 과정과 37 °C에서의 방출 과정에서 단백질의 변성이 없음을 알 수 있다.

<99> 시 험 예 3: 단백질 약물 함유 미세 입자들의 체외 방출 및 안정성 시험

<100> 실시예 4(소 성장 호르몬), 실시예 5(돼지 성장 호르몬), 실시예 6(과립구 마크로 파지-콜로니 자극인자), 실시예 7(에리트로포이에틴), 실시예 8(인터페론-알파), 실시예 9(인터페론-감마), 실시예 10(인슐린) 및 실시예 11(인슐린-유사 성장인자-I)에서 제조된 여러 가지 단백질 약물들의 미세 입자 제형을 사용하여 시험예 1에서와 같은 방법으로 체외 방출 시험을 하였고, 시험예 2에서와 같이 방출된 약물이 변성되었는지를 확인하였다.

<101> 표 1에 10시간 및 72시간에서의 누적 방출량, 및 72 시간까지의 누적 방출 시료 중의 단백질의 단량체 함량을 나타내었다.

<102> 【표 1】

제형	10시간 방출량(%)	72시간 방출량(%)	단량체 함량(%)
실시예 4	45	92	94
실시예 5	47	87	89
실시예 6	44	89	97
실시예 7	32	76	95
실시예 8	54	92	94
실시예 9	49	88	95
실시예 10	60	95	95
실시예 11	38	93	97

<103> 표 1의 결과로부터, 본 발명의 제형으로부터 약물이 지속적으로 방출되며 방출된 약물들이 변성되지 않았음을 확인하였다.

<104> 시 험 예 4: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자의 면실유 분산액의 주사능 시험

<105> 본 발명의 미세 입자 제형은 식용유 및 식용유와 물의 혼합액에 균일하게 분산되는 특징이 있어 가는 주사 바늘로 투여할 수 있는 장점이 있다. 본 시험에서는 주사제가 충전되어 있는 주사기를 80 mm/분의 일정 속도로 밀어줄 때 필요한 힘(주사능)을 측정하였다. 주사 바늘은 26 게이지(gauge)를 사용하였으며, 0.9 % NaCl 수용액, 면실유, 실시예 15의 면실유 분산액, 실시예 20의 에멀전 분산액, 비교예 2의 분산액 및 비교예 3의 분산액에 대한 주사능을 표 2에 나타내었다.

<106> 【표 2】

제형	고체 입자 농도(mg/ml)	주사능(kgf)
0.9% NaCl 수용액	0	0.1
면실유	0	1.6
실시예 15 면실유 분산액	100	1.7
실시예 20 에멀전 분산액	120	0.8
비교예 2 면실유 분산액	100	10.5
비교예 3 O/W 분산액	20	23.3

<107> 표 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 본 발명의 미세 입자 제형은 표면이 친유성 물질로 구성되어 있어 면실유에 분산성이 우수하므로 실시예 15의 제형(면실유 분산액)의 주사능이 면실유 자체의 주사능과 거의 대등하다. 또한 본 발명의 미세 입자 제형은 표면의 친유성 특징으로 인하여 면실유에 분산시킨 다음 물에 재분산시켰을 때 면실유가 입자 표면을 둘러 싸 액적(droplet)을 이루면서 물에 분산되어 에멀전을 형성한다. 이러한 균질 에멀전의 형성으로 인해 실시예 20의 제형(에멀전 분산액)은 고체 농도가 가장 높음에도 불구하고 면실유의 주사능 보다는 낮은 주사능을 보인다.

<108> 한편, 표면이 친유성 물질로 구성되어 있지 않은 히아루론산 나트륨의 미세 입자는 면실유에 분산성이 열등하므로, 비교예 2의 제형(면실유 분산액)은 면실유 또는 실시예 15의 제형에 비해 주사할 때 6배 이상의 힘이 요구된다. 뿐만 아니라, 표면이 친수성이므로 입자를 면실유에 분산시킨 다음 물에 재분산 시켰을 때 면실유가 입자 표면을 피복하지 못하고 상분리가 일어나며, 물에 접촉한 미세 입자 표면으로부터 팽윤(swelling)이 일어나서 입자의 응집과 히아루론산 나트륨의 용해로 인하여 물층의 점성이 증가하게 된다. 따라서, 비교예 3의 제형(O/W 분산액)은 비교예 2의 면실유 분산액보다는 2 배 이상, 본 발명의 제형인 실시예 15 및 실시예 20의 제형 보다는 각각 14 배 및 30 배 큰 주사능이 요구된다.

<109> 시 험 예 5: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자의 면실유 분산액의 주사능 시험

<110> 인간 성장 호르몬을 포함하는 미세 입자의 표면이 각각 스테아르산, 스펜 60, 글리세릴 모노-스테아레이트로 구성되어 있는, 실시예 22, 23 및 24의 인간 성장 호르몬-함유 미세 입자의 수중유적형 에멀전 분산액의 주사능을 시험예 4에서의 방법으로 측정하였다. 그 결과, 대두유의 주사능은 1.4 kg<sub>f</sub> 였고, 실시예 22, 23 및 24의 에멀전 분산액의 주사능은 모두 0.3 내지 0.5 kg<sub>f</sub>로 0.9 % NaCl 수용액의 주사에 필요한 힘에 가깝다. 상기 제형의 표면이 모두 대두유와 친화성이 있어 고체 입자 표면에 대두유가 피복됨으로 인하여 균일상의 수중유적형 에멀전이 형성되므로 주사바늘을 통과할 때의 저항이 거의 물과 같이 작다.



## &lt;111&gt; 시 험 예 6: 인간 성장 호르몬 함유 미세 입자 제형의 동물 시험

<112> 몸무게 약 100 g 전후의 생후 7 주령인 암컷 난장이 쥐(dwarf rat)를 실험 동물로 사용하여 본 발명의 서방성 인간 성장 호르몬 미세 입자 제형의 효과를 확인하였다.

난장이 쥐는 유전적으로 성장 호르몬의 분비가 정상 쥐보다 낮은 종자로 인간 성장 호르몬을 투여하면 성장이 촉진되어 몸무게가 증가한다.

<113> 실시예 15와 실시예 20에서 제조한 분산액을 인간 성장 호르몬의 양이 350  $\mu\text{g}$ 이 되도록 각 개체에 투여하고 6일 동안 몸무게 증가를 관찰하였다. 본 발명의 제형 효과를 비교하기 위하여 기존의 수용액상 제형으로 시판중인 (주)엘지화학의 유트로핀<sup>R</sup> 제형, 비교예 2의 제형 및 비교예 3의 제형을 인간 성장 호르몬의 양이 350  $\mu\text{g}$ 이 되도록 각각 투여한 군, 및 성장 호르몬을 투여하지 않은 대조군의 몸무게 증가도 함께 측정하였다. 각군의 개체 수는 10 마리였다. 하기 표 3에 투여후의 평균 누적 몸무게 증가(g)를 나타내었다.

## &lt;114&gt; 【표 3】

시험군	1일	2일	3일	4일	5일	6일
대조군	0.9	2.7	3.6	4.7	6.3	7.5
유트로핀 <sup>R</sup> 투여군	4.7	4.2	5.3	6.4	7.1	8.5
비교예 2 제형 투여군	5.0	5.7	7.2	8.5	10.2	11.5
비교예 3 제형 투여군	4.3	4.9	3.6	5.4	6.7	7.8
실시예 15 제형 투여군	5.5	6.6	7.3	8.7	11.4	12.3
실시예 20 제형 투여군	5.3	6.8	8.1	9.2	11.3	13.0

<115> 표 3에서 볼 수 있는 바와 같이, 수용액상 제형인 유트로핀<sup>R</sup>을 투여한 군은 투여 1일 후에는 몸무게 증가가 있었으나 2일 후에는 몸무게 감소를 보이며 이 후에는 대조군과 거의 유사한 증가 추세를 보인다.

<116> 표면이 친유성 물질로 구성되지 않은 미세 입자를 면실유에 분산한 비교예 2의 제형을 투여한 군은 꾸준한 몸무게 증가가 있었으나, 비교예 3의 제형을 투여한 군은 수용액상 제형과 유사하게 투여 후 3 일째에 몸무게 감소를 보이며 이후에도 수용액상 제형 투여 군과 유사한 몸무게 증가 양상을 보인다. 비교예 3의 제형은 미세 입자 표면의 친수성으로 인하여 입자 표면이 면실유로 피복되지 않아서 약물이 물에 녹아 나왔기 때문에 수용액상 제형과 거의 동일한 효과를 보인다.

<117> 대조적으로, 본 발명의 제형을 면실유에 분산하여 제조한 실시예 15의 제형을 투여한 군과 본 발명의 제형을 면실유/물의 에멀전에 분산하여 제조한 실시예 20의 제형을 투여한 군은 몸무게가 6일 동안 꾸준하게 증가하며, 증가율도 비교예 2의 제형 투여군보다 높다. 이는 미세 입자 표면이 주사후에도 면실유로 피복되어 있을 뿐만 아니라, 레시틴 피복이 미세 입자의 수분 흡수 속도를 지체시켜 약물 방출 지속 기간이 길어졌기 때문이다.

<118> 시 험 예 7: 소 성장 호르몬 함유 미세 입자 제형의 동물 시험

<119> 몸무게 약 100 g 전후의 생후 7 주령인 암컷 난장이 쥐를 실험 동물로 사용하여, 고체상의 미세 입자를 대두유에 분산하여 제조한 실시예 17의 제형 및 고체상의 미세 입자를 대두유와 물로 조합된 수중유적형 에멀전에 분산하여 제조한 실시예 25의 제형을

소 성장 호르몬의 양이 12.5 mg이 되도록 각 개체에 투여하고 몸무게 증가를 관찰하였다. 표 4에 서방성 미세 입자 제형 투여군과 무투여 대조군의 투여후의 평균 누적 몸무게 증가(g)를 나타내었다.

<120> 【표 4】

시험군	1일	2일	3일	4일	5일	6일	8일	10일
대조군	1.4	2.9	4.6	6.1	6.5	7.2	8.8	10.4
실시에 17 제형 투여군	10.3	10.8	14.9	18.1	19.4	20.6	22.2	22.7
실시에 25 제형 투여군	9.7	11.5	14.6	17.7	19.9	20.8	22.5	22.9

<121> 표 4에서 볼 수 있는 바와 같이, 실시에 17의 제형을 투여한 군과 실시에 25의 제형을 투여한 군은 몸무게가 6일 동안 꾸준히 증가하며 1일 몸무게 증가량이 무투여 대조군의 1일 몸무게 증가량보다 크다. 또한, 실시에 17의 대두유 분산 제형과 실시에 25의 대두유/물의 에멀전 분산 제형 투여군은 몸무게 증가 속도가 8일 이후에는 급격히 둔화되므로 약물의 방출이 8일 이상 지속되지 않음을 알 수 있으며 체내 방출 지속 기간이 거의 동등하다.

<122> 시험 예 8: 인터페론-알파 함유 미세 입자 제형의 동물 시험

<123> 다음과 같이, 인터페론-알파가 포함된 본 발명의 제형을 토끼에 투여하여 약물의 역가가 장시간 지속됨을 확인하였다. 실시에 27에서 제조된 수중유적형 에멀전 분산액을 체중 2.5 kg인 5개월령 토끼에게 인터페론-알파의 양이 300  $\mu$ g이 되게 투여하였다. 대조군에는 비교예 5에서 제조된, 표면이 친유성 물질로 피복되지 않은 히아루론산 고체

입자의 면실유 분산액을 인터페론-알파의 양이 300  $\mu\text{g}$ 이 되게 투여하고, 다른 한 군에는 수용액상 인터페론-알파 제형을 인터페론-알파의 양이 300  $\mu\text{g}$ 이 되게 투여하였다.

<124> 혈중 약물 농도는 세포병변법(cytopathic effect inhibition test)으로 측정하였는데 간단히 설명하면, 시험용 세포에 인터페론-알파를 처리한 후 바이러스를 가하여 세포병변을 억제하는 정도를 결정하는 역가 시험법이다. 시험용 세포로는 숫송아지 신장세포(MDBK CATCC CCL-22)를 사용하였고, 시험용 바이러스는 수포성 구내염 바이러스(Vesicular stomatitis virus; ATCC VR 158)를 사용하였다. 하기 표 5에 5 일간의 혈중의 인터페론-알파의 역가(IU/ml)를 나타내었다.

<125> 【표 5】

시험군	7시간	1일	2일	3일	4일	5일
수용액상 제형	$1.4 \times 10^3$	$1.2 \times 10^1$	검출되지 않음	검출되지 않음	검출되지 않음	검출되지 않음
비교예 5 제형 투여 군(대조군)	$2.1 \times 10^3$	$2.6 \times 10^3$	$9.1 \times 10^2$	$3.4 \times 10^2$	$1.7 \times 10^2$	$1.5 \times 10^1$
실시에 27 제형 투 여군	$1.7 \times 10^3$	$2.2 \times 10^3$	$1.1 \times 10^3$	$4.6 \times 10^2$	$2.8 \times 10^2$	$8.7 \times 10^1$

<126> 상기 표 5에서 보듯이 고체상의 미세 입자로 제제화한 비교예 5와 실시에 27의 제형 투여군들에서는 혈중의 인터페론-알파의 역가가 5 일간 높게 나타나나 수용액상의 인터페론-알파를 투여한 군에서는 1일 이후에는 역가가 측정되지 않는다. 표면이 친유성

물질로 이루어지지 않은 비교예 5의 히아루론산 고체 입자 제형 투여군의 경우 1일째에 나타나는 최고 역가의 1/10 수준의 역가가 약 3-4일에 나타나며, 본 발명의 제형인 실시예 27의 제형 투여군에서는 1 일째의 최고 역가의 1/10 수준의 역가는 4-5일에 나타난다. 즉, 본 발명의 제형에서는 표면의 친유성이 체내에서 방출 지속 기간을 연장하는 효과도 있다.

<127> 비교 시험예 1: 히아루론산 젤 제형의 체외 방출실험

<128> 인간 성장 호르몬이 2.3 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충 용액에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 20 mg/ml 로 용해시켜, 히아루론산 농도 2 % 인 젤에 인간 성장 호르몬이 포함된 젤 제형을 제조하였으며, 이를 이용하여 시험예 1과 같이 체외 방출 시험을 하였다.

<129> 히아루론산 젤 제형의 체외 방출 실험 결과 1 시간 이내에 인간 성장 호르몬이 상층액으로 100 % 방출되었다. 즉, 젤 제형은 물에 의해 쉽게 희석되어 체외 방출 지속기간이 고체상의 미세입자 보다 매우 짧음을 알 수 있다.

<130> 비교 시험예 2: 히아루론산 젤 제형의 동물 실험

<131> 인간 성장 호르몬이 1.5 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충 용액에 분자량 2,000,000인 히아루론산 나트륨을 20 mg/ml로 용해시켜 유동성이 없는 젤을 형성하였다. 히아루론산 젤 제형을 인간 성장 호르몬의 양이 150  $\mu$ g이 되도록 난장이 쥐에 투여하고 누적 몸무게 증가(g)를 6 일간 관찰하여 결과를 하기 표 6에 나타내었다. 비

교 대상으로 수용액상 제형인 유트로핀<sup>R</sup>을 인간 성장 호르몬의 양이 150  $\mu\text{g}$ 이 되도록 투여한 군 및 무투여 대조군을 설정하였다.

<132> 【표 6】

시험군	1일	2일	3일	4일	5일	6일
대조군	1.6	2.4	4.1	4.8	6.2	8.1
히아루론산 젤 제형	3.2	3.6	3.0	6.1	6.7	7.7
유트로핀 <sup>R</sup> 투여군	3.3	2.6	4.2	6.4	7.8	8.3

<133> 시험예 6에서 인간 성장 호르몬을 함유한 본 발명의 제형을 난장이 쥐에 투여하였을 때 6일 동안 지속적인 몸무게 증가가 있었던 결과와는 달리, 히아루론산 젤 제형 투여군은 수용액상 제형인 유트로핀<sup>R</sup>을 투여한 군과 유사한 경향을 보인다. 즉, 투여 2일 또는 3일 후 몸무게가 감소하고 이후 몸무게는 무투여 대조군과 거의 비슷한 정도이므로 젤 제형은 약물 방출기간이 하루 이상 장기간 지속되지 않음을 알 수 있다.

<134> 비교 시험예 3

<135> 천연형 히아루론산과 벤질알콜의 화학반응을 통하여 제조된 히아루론산-벤질 에스테르에 hGH가 포함된 입자 제형을 제조하였다. 먼저 hGH가 2 mg/ml의 농도로 용해되어 있는 5 mM 인산염 완충용액에 계면활성제인 트윈 80을 0.01 중량%로 첨가하여 제조한 용액을 3ml/분의 유량으로 분무건조기(Buchi 190)에 공급하여 입자를 제조하였다. 이때 분무건조기로 유입되는 건조공기의 온도는 85  $^{\circ}\text{C}$ 이고 얻어진 미세 입자의 평균 입경은 2.5  $\mu\text{m}$ 이었다. 제조된 hGH 미세입자를 히아루론산-벤질에스테르가 6 % 농도로 녹아 있는

디메틸설폭사이드(DMSO) 용액에 분산시키고, 이 분산액을 계면활성제(Aracel ATM; 입수처: Atlas Chemical Ind.)를 포함하는 미네랄 오일에 가한 후 호모게나이저를 이용하여 마이크로에멀전을 만들었다. 형성된 마이크로에멀전은 미네랄 오일을 연속상으로, hGH 미세입자가 분산되어 있는 히아루론산-벤질에스터/DMSO 용액을 분산상으로하여 구성된다. 이 마이크로에멀전계에 에틸아세테이트를 가하면서 교반하면, DMSO가 에틸아세테이트로 추출되면서 히아루론산-벤질에스터가 경화되어 hGH 입자가 함유된 히아루론산-벤질에스터 입자가 얻어진다. 얻어진 최종입자의 크기는  $5.5\ \mu\text{m}$ 이며 hGH의 함량은 45중량%였다.

<136> 시험에 1과 동일한 방법으로 상기 입자의 체외 방출 시험을 실시하여 그 결과를 하기 표 7에 나타내었다.

<137> 【표 7】

경과시간	0	1	3	5	7	24	48	72	144
방출량(%)	0	15	21	23	25	27	28	30	30

<138> 표 7에서 보듯이, 천연형 히아루론산에 소수성을 부여한 히아루론산-벤질에스터를 사용하여 제조한 미세입자 제형에서 약물인 hGH의 방출은 초기 5 시간 이후에는 거의 없다. 이처럼 hGH 방출이 되지 않는 이유는 hGH와 매트릭스인 히아루론산-벤질에스터와의 상호작용이 너무 크기 때문이다.

<139> 또한 상기 제조된 미세 입자를 면실유에 hGH의 양이  $300\ \mu\text{g}$ 이 되도록 분산한 용액을 난장이 쥐에 투여하여 7 일 동안 관찰한 몸무게 증가의 누적치(g)를 하기 표 8에 나타내었다.

## &lt;140&gt; 【표 8】

시험군	1일	2일	3일	4일	5일	6일	7일
무투여군	1.2	2.3	3.6	5.7	6.6	7.3	8.2
히아루론산-벤질에스터 제형 투여군	3.6	2.7	5.4	6.3	7.1	8.4	8.0

<141> 표 8에서 보듯이, 히아루론산-벤질에스터 입자 제형의 효과는 1일 이후에는 거의 없음을 알 수 있다.

## 【발명의 효과】

<142> 히아루론산 또는 이의 무기염을 이용한 본 발명의 고체상의 서방성 미세입자 제형은 기존의 히아루론산 젤을 이용한 서방성 제형보다 체내에서 약물 방출 지속 기간이 길며, 고체 입자 표면이 친유성 물질로 구성되어 있어 비수성 용액에의 분산성이 우수하므로 점성이 낮은 비수성 주사제로 만들 수 있을 뿐만 아니라, 비수성 주사제를 주사용 완충 수용액에 다시 분산시키면 점성이 더욱 낮은 수중유적형 에멀전 분산 주사제를 제조할 수 있다. 표면이 친유성 물질로 구성되어 있는 본 발명의 미세 입자 제형은 에어로솔 제제로 간편하게 투여할 수 있다. 본 발명의 제형은 약물이 모두 방출될 때까지 약물의 변성이 일어나지 않는 장점이 있다.



**【특허청구범위】****【청구항 1】**

단백질 또는 펩티드 약물 및 히아루론산 또는 이의 무기염의 고체상 혼합물의 입자표면을 친유성 물질로 피복한 평균 입경 0.1 내지 200  $\mu\text{m}$  크기를 갖는 고체상의 미세 입자 제형.

**【청구항 2】**

제 1 항에 있어서,  
상기 약물의 안정제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 제형.

**【청구항 3】**

제 2 항에 있어서,  
상기 안정제가 탄수화물, 단백질, 아미노산, 리피드, 지방산, 무기염, 계면활성제, 폴리에틸렌 글리콜 및 이들의 혼합물로 이루어진 그룹에서 선택된 것임을 특징으로 하는 제형.

**【청구항 4】**

제 1 항에 있어서,  
상기 미세 입자의 평균 입경이 1 내지 50  $\mu\text{m}$ 인 제형.

**【청구항 5】**

제 1 항에 있어서,  
상기 약물이 인간 성장 호르몬, 소 성장 호르몬, 돼지 성장 호르몬, 성장 호르몬 방출호

르몬, 성장 호르몬 방출 펩티드, 과립구-콜로니 자극인자(granulocyte-colony stimulating factor), 과립구 마크로파지-콜로니 자극인자(granulocyte macrophage-colony stimulating factor), 마크로파지-콜로니 자극인자(macrophage-colony stimulating factor), 에리트로포이에틴(erythropoietin), 골격 형태발생 단백질 (bone morphogenic protein), 인터페론(interferon), 인슐린(insulin), 아트리오펩틴-III(atriopeptin-III), 모노클로날 항체(monoclonal antibody), 종양 괴사인자(tumor necrosis factor), 마크로파지 활성화인자(macrophage activating factor), 인터루킨(interleukin), 종양 변성인자(tumor degenerating factor), 인슐린-유사 성장인자(insulin-like growth factor), 표면 성장인자(epidermal growth factor), 조직 플라스미노겐 활성화제(tissue plasminogen activator), 유로키나제(urokinase)로 이루어진 그룹에서 선택된 것임을 특징으로 하는 제형.

#### 【청구항 6】

제 1 항에 있어서,

상기 히아루론산의 무기염이 히아루론산의 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 마그네슘, 아연, 구리 또는 코발트의 염임을 특징으로 하는 제형.

#### 【청구항 7】

제 1 항에 있어서,

상기 친유성 물질이 레시틴(lecithin), 포스파티딜콜린 (phosphatidylcholine), 포스파티딜에탄올아민(phosphatidylethanolamine), 포스파티딜세린(phosphatidyl-serine) 및 포스파티딜이노시톨(phosphatidylinositol)과 같은 리피드, 이들 리피드의 유도체, 미리스트

산(myristic acid), 팔미트산(palmitic acid) 및 스테아르산(stearic acid)와 같은 지방산, 이들 지방산의 염, 글리세릴 스테아레이트(glyceryl stearate), 소르비탄 팔미테이트(sorbitan palmitate) 및 소르비탄 스테아레이트(sorbitan stearate)와 같은 지방산의 에스터 유도체, 폴록사머(poloxamer)와 같은 계면활성제, 및 왁스로 이루어진 그룹에서 선택된 것임을 특징으로 하는 제형.

**【청구항 8】**

제 1 항 또는 제 2 항의 제형을 비수성 주사제용 용액에 분산시켜 제조된 주사제.

**【청구항 9】**

제 8 항에 있어서,

상기 비수성 주사용액이 식용유, 미네랄 오일(mineral oil), 스쿠알렌(squalene), 스쿠알란(squalane), 대구 간유(cod liver oil), 모노(mono)-, 디(di)- 및 트리-글리세라이드 (tri-glyceride) 또는 이들의 혼합물인 것을 특징으로 하는 주사제.

**【청구항 10】**

제 9 항에 있어서,

상기 식용유가 옥배유(corn oil), 올리브유(olive oil), 대두유(soybean oil), 홍화유(safflower oil), 면실유(cotton seed oil), 땅콩유(peanut oil), 호마유(sesame oil) 또는 이들의 혼합물인 것을 특징으로 하는 주사제.

**【청구항 11】**

제 8 항에 있어서, 방부제 또는 분산제를 추가로 포함하는 주사제.

【청구항 12】

제 3 항의 주사제에 주사용 수용액을 첨가하여 제조된 수중유적형 에멀전 주사제.

【청구항 13】

제 12 항에 있어서,

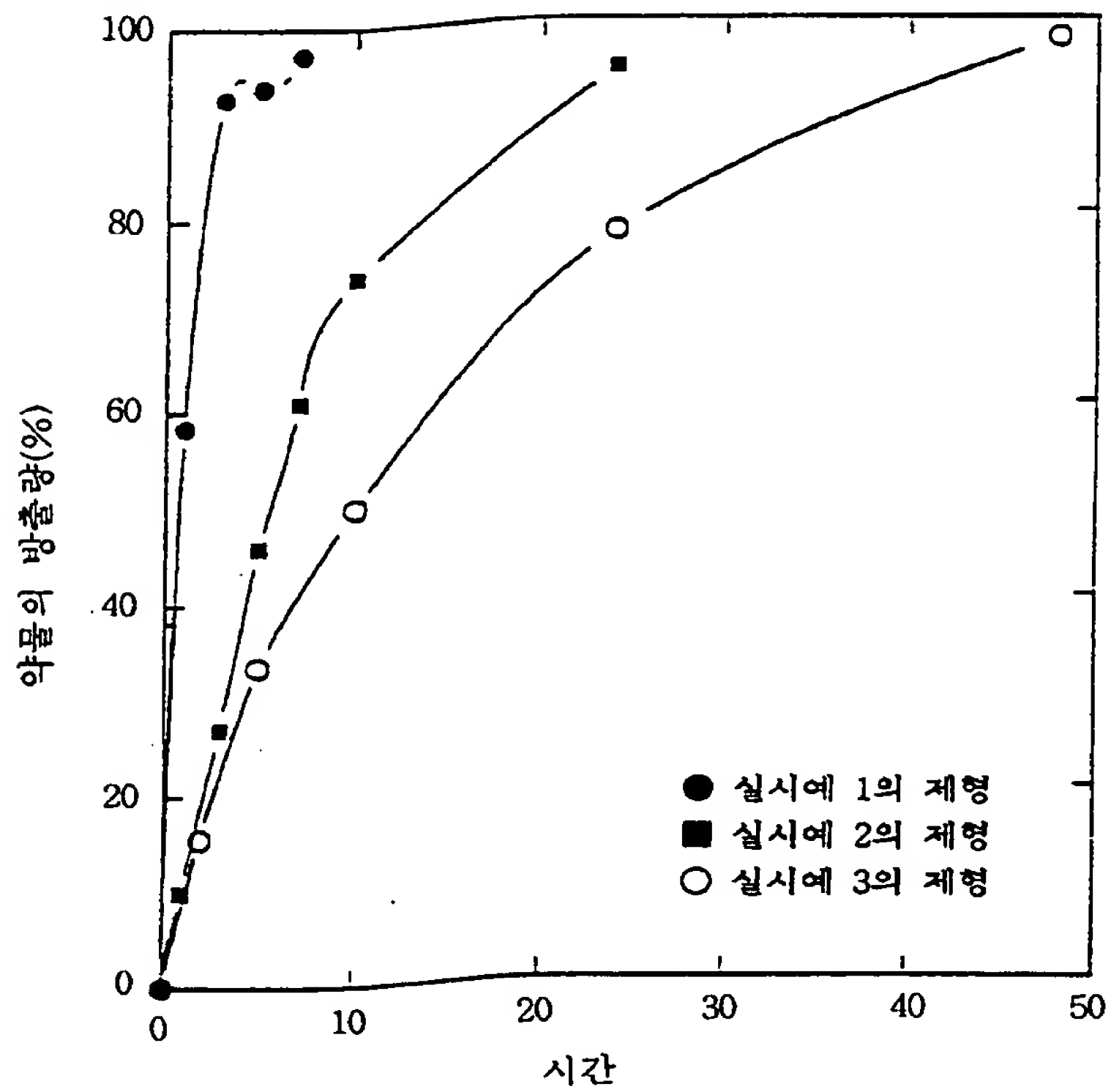
상기 주사용 수용액이 주사용 증류수, 주사용 완충용액, 또는 이들에 방부제나 분산제가 추가로 포함된 것임을 특징으로 하는 주사제.

【청구항 14】

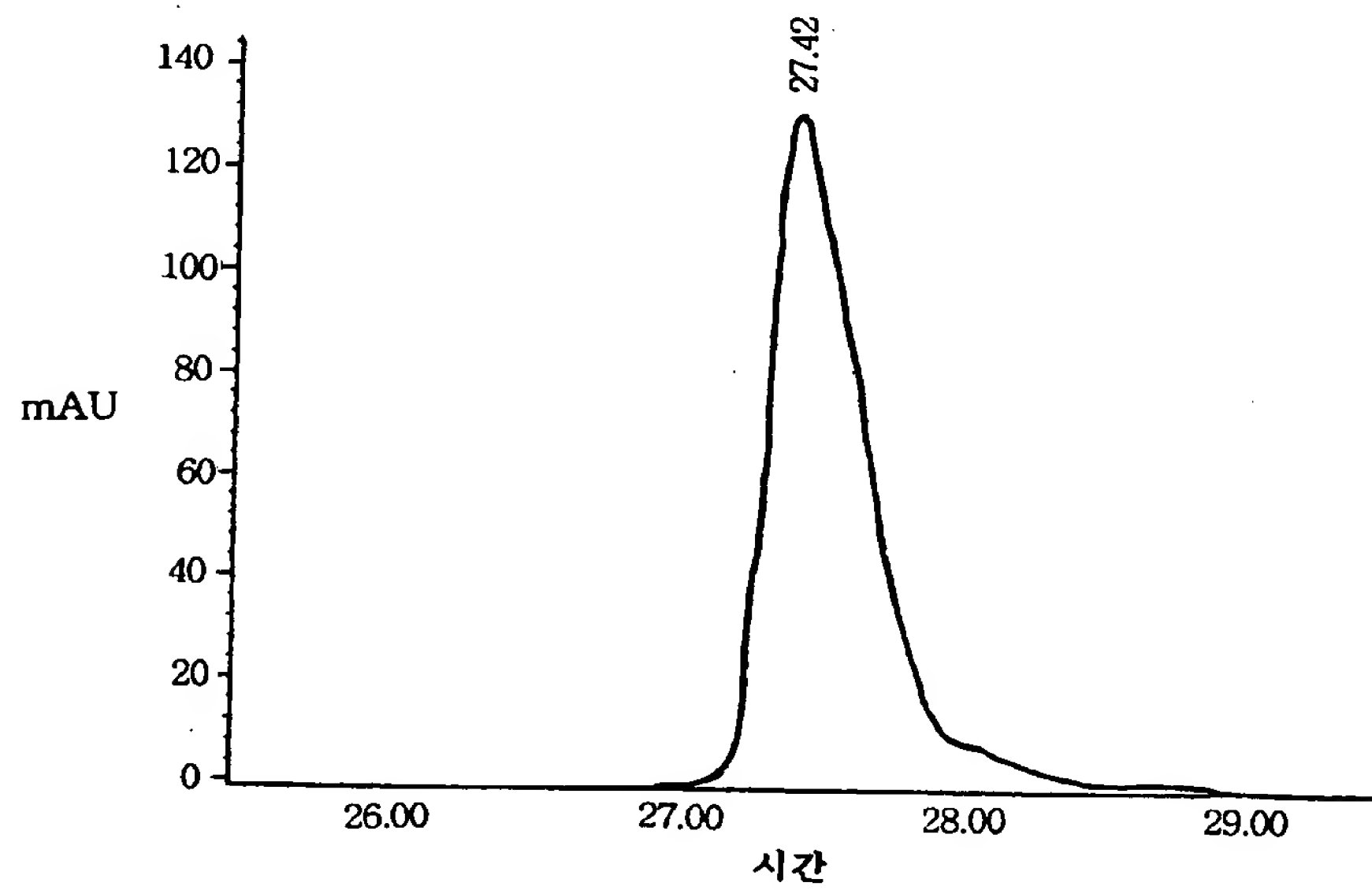
제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 제형을 포함하는 에어로솔(aerosol) 제제.

【도면】

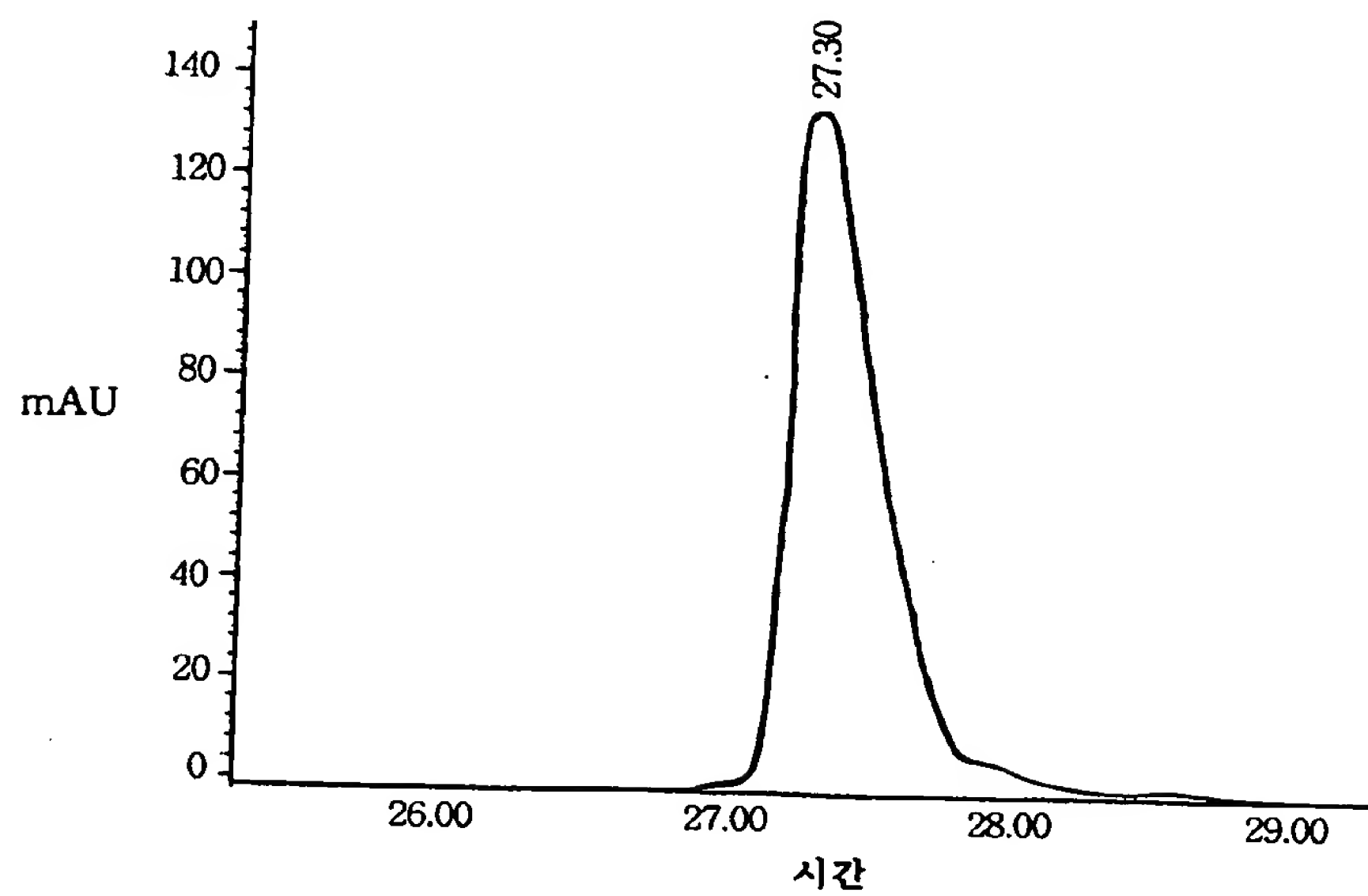
【도 1】



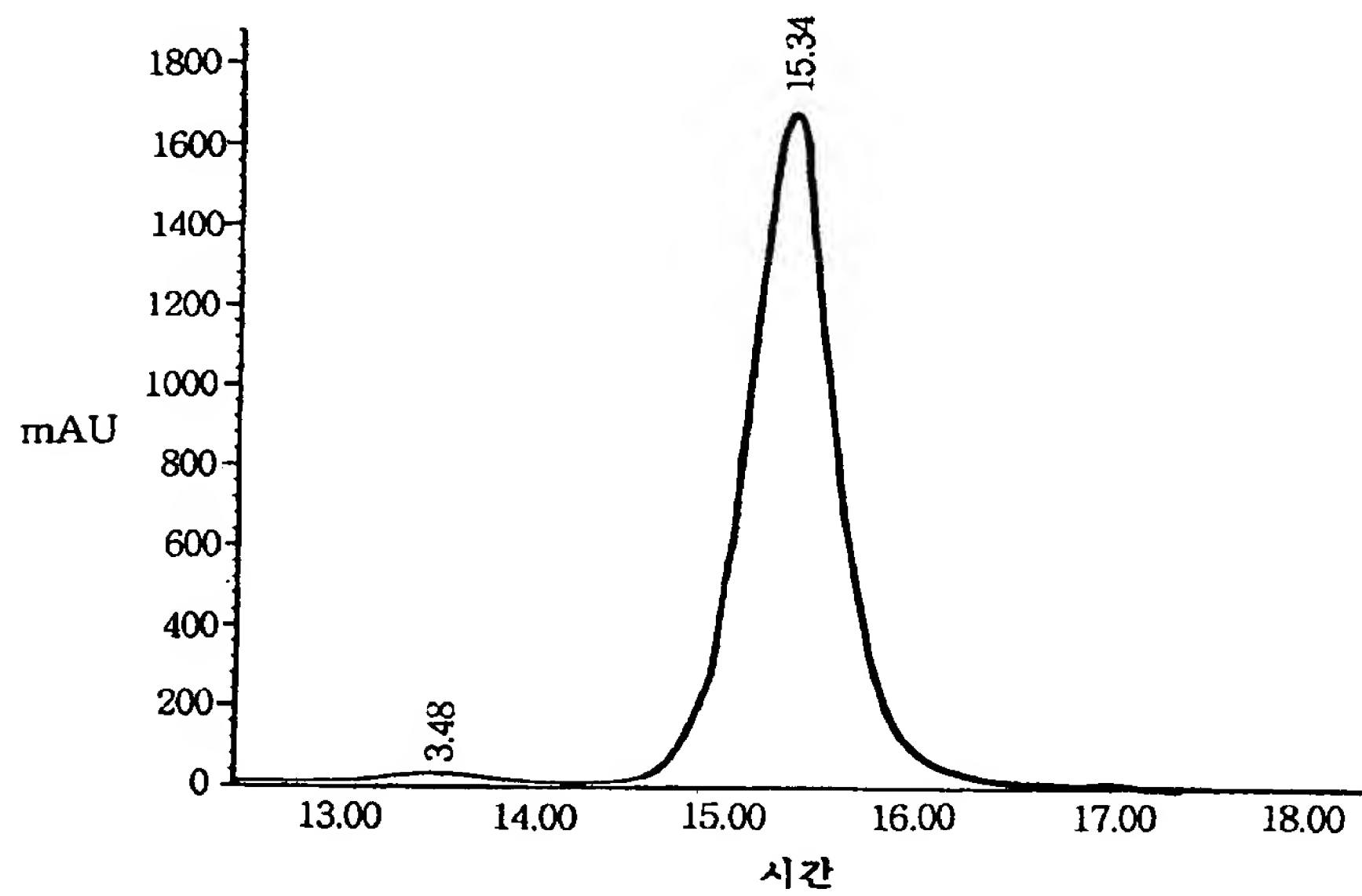
【도 2a】



【도 2b】



【도 3a】



【도 3b】

